

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-120279

(P2001-120279A)

(43) 公開日 平成13年5月8日 (2001.5.8)

| (51) Int.Cl. ⁷ | 識別記号 | F I | チーコード ⁷ (参考) |
|---------------------------|-------|---------------|-------------------------|
| C 1 2 N 15/09 | Z N A | A 0 1 H 5/00 | A 2 B 0 3 0 |
| A 0 1 H 5/00 | | C 1 2 N 15/00 | Z N A A 4 B 0 2 4 |
| C 1 2 N 5/10 | | 5/00 | C 4 B 0 6 5 |

審査請求 未請求 請求項の数13 O L (全 25 頁)

| | | | |
|-----------|----------------------------|----------|--|
| (21) 出願番号 | 特願平11-310178 | (71) 出願人 | 899000046 関西ティー・エル・オー株式会社 京都府京都市下京区中堂寺栗田町1番地 |
| (22) 出願日 | 平成11年10月29日 (1999. 10. 29) | (72) 発明者 | 田坂 昌生 奈良県生駒市高山町8916-5 奈良先端科学技術大学院大学内 |
| | | (72) 発明者 | 加藤 壮英 奈良県生駒市高山町8916-5 奈良先端科学技術大学院大学内 |
| | | (74) 代理人 | 100075557 弁理士 西教 圭一郎 (外3名) |

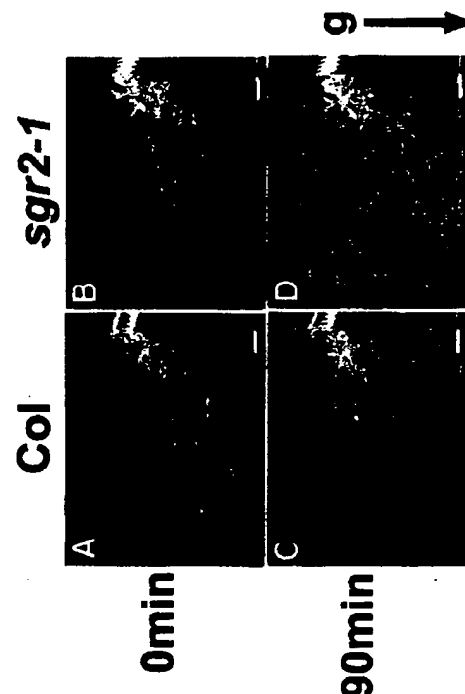
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 重力屈性遺伝子、負の重力屈性の形質を発現しない胚軸および花茎を有する高等植物

(57) 【要約】

【課題】 高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示す重力屈性遺伝子を提供すること。

【解決手段】 シロイヌナズナの種子に突然変異を誘発させ、胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示さない個体からDNAを抽出し、変異部位を特定することによって、高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示し、配列表の配列番号1に示すアミノ酸配列を有するタンパク質をコードするDNAの領域、または配列表の配列番号2に示す塩基配列を有することを特徴とする重力屈性遺伝子を得る。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示し、配列表の配列番号1に示すアミノ酸配列を有するタンパク質をコードするDNAの領域を含有する重力屈性遺伝子。

【請求項2】 高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示し、配列表の配列番号1に示すアミノ酸配列において1または複数個のアミノ酸が欠失、置換または付加されたタンパク質をコードするDNAの領域を含有する重力屈性遺伝子。

【請求項3】 高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示し、配列表の配列番号2に示す塩基配列を有することを特徴とする重力屈性遺伝子。

【請求項4】 高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示し、配列表の配列番号2に示す塩基配列において1または複数個の塩基が欠失、置換または付加されたことを特徴とする重力屈性遺伝子。

【請求項5】 前記タンパク質をコードするDNAの領域の5'上流側に配置され、かつ前記タンパク質をコードするDNAの領域に対するプロモーター活性を有し、配列表の配列番号3に示す塩基配列をさらに含有することを特徴とする請求項1または2記載の重力屈性遺伝子。

【請求項6】 前記タンパク質をコードするDNAの領域の5'上流側に配置され、かつ前記タンパク質をコードするDNAの領域に対するプロモーター活性を有し、配列表の配列番号3に示す塩基配列において1または複数個の塩基が欠失、置換または付加されたDNAの領域をさらに含有することを特徴とする請求項1または2記載の重力屈性遺伝子。

【請求項7】 前記塩基配列の5'上流側に配置され、かつ前記塩基配列に対するプロモーター活性を有し、配列表の配列番号3に示す塩基配列をさらに含有することを特徴とする請求項3または4記載の重力屈性遺伝子。

【請求項8】 前記塩基配列の5'上流側に配置され、かつ前記塩基配列に対するプロモーター活性を有し、配列表の配列番号3に示す塩基配列において1または複数個の塩基が欠失、置換または付加されたDNAの領域をさらに含有することを特徴とする請求項3または4記載の重力屈性遺伝子。

【請求項9】 高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示し、配列表の配列番号4に示すcDNAであることを特徴とする重力屈性遺伝子。

【請求項10】 請求項1～9のいずれかに記載の重力屈性遺伝子から転写されるmRNAとハイブリダイズすることを特徴とするDNAフラグメント。

【請求項11】 請求項1～9のいずれかに記載の重力屈性遺伝子を含有することを特徴とする組み換えベクター。

【請求項12】 請求項1～9のいずれかに記載の重力

屈性遺伝子がコードするタンパク質の合成が阻害されたことを特徴とする高等植物。

【請求項13】 前記タンパク質をコードするDNAの領域から転写されるmRNAとハイブリダイズするアンチセンスRNAフラグメントを有することを特徴とする請求項12記載の高等植物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示す重力屈性遺伝子、ならびに負の重力屈性の形質を発現しない胚軸および花茎を有する高等植物に関する。

【0002】

【従来の技術】植物は、光、重力、接触、化学物質および湿度のような外界からの刺激に反応して植物体の一部を屈曲させる性質を有している。植物が重力方向に成長する成長反応を重力屈性と呼び、高等植物においては、茎は負の重力屈性を示し、根は正の重力屈性を示す。この重力屈性反応経路には、(1)重力を認知する、(2)シグナル変換を行う、(3)細胞伸長の違いによって不均一な細胞伸長を示す、という3つの段階があることが知られている(Feldmann, L.J., *Physiol. Plant* 65:341-344, 1985; Pickard, B.G. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 36:55-75, 1985; Sack, F.D. *Int. Rev. Cytol.* 127:193-252, 1991; Roberts J.A. and Gilbert I., *CM Karsen, LC van Loon, DV Vreugdenhil eds, Progress in Plant Growth Regulation. Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands, pp913-920, 1992; Poff et al., In EM Meyerowitz, CR Somerville, eds, Arabidopsis. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp 639-664 1994; Kaufman et al., In PJ Davies, ed, Plant Hormones. Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands, pp 547-571 1995)。すなわち、茎が重力の方向に対して傾いたことを知り、次にその情報が伝わり、その情報に応じて茎の上側の細胞と下側の細胞がそれぞれ伸びる長さを変え、茎全体として起き上がるのである。しかしながら、重力屈性に関わる分子メカニズムに関しては、茎についても根についても詳細に解明されていない。分子メカニズムを解明する一つの手段として、重力屈性にかかわる遺伝子を単離することが挙げられる。実際、根の重力屈性変異体および茎の重力屈性変異体が、いくつかの植物から単離されている。*

【0003】ところで、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) は、高等植物分子遺伝学の研究材料として広く用いられており、遺伝子を取り出して調べたり、一部を改変して再び植物細胞内に戻してその性質を調べるといった、遺伝子操作に適した植物材料である。このシロイヌナズナについては、根の重力屈性に関わる8つの遺伝子座が同定されている。シロイヌナズナの茎に関しては、花茎と胚軸の両方が負の重力屈性を示すが、花茎に

おける重力屈性の特徴については、詳細に説明されておらず、a x r 2 (auxin resistance 2) 変異体および p g m (phosphoglucumutase deficient) 変異体を除いて、花茎の異常な重力屈性を示す変異体に関する報告はない。a x r 2 の花茎は、重力に対して適応を示さず、ねじれて地表面方向へ後ろ向きに成長することがあり (Wilson et al., Mol. Gen. Genet 222:377-383, 1990)、胚軸および根の重力屈性にも欠陥がある (Timp et al., Planta 188:271-278, 1992)。したがって、一般的に、シロイヌナズナの重力屈性反応のメカニズムは、花茎においても胚軸においても同様であると考えられる。しかしながら、高等植物において、茎の重力屈性反応に関するメカニズムと、胚軸の重力屈性反応に関するメカニズムとが遺伝的に異なるかどうかについては不明である。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、高等植物の花茎および胚軸の重力屈性に関する遺伝子を提供し、その遺伝子を用いて、高等植物において重力屈性遺伝子の発現を制御することによって、重力屈性を示さない高等植物を作出することである。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者は、重力屈性を示さない突然変異シロイヌナズナを分離し、該植物において胚軸および花茎の負の重力屈性遺伝子を発見し、該植物からその重力屈性遺伝子をクローニングし、本発明を完成するに至った。

【0006】本発明の重力屈性遺伝子は、高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質を発現させるという機能を有する。これは、この遺伝子が破壊された突然変異体が、重力屈性の形質を発現しないことからわかる。重力屈性の形質を発現しない突然変異体としては、従来の技術で述べたように a x r 2 などが既に知られているが、本発明の遺伝子に起因する突然変異体は、胚軸と花茎のみに変異が生じ、根には生じないという点で a x r 2 とは異なっている。したがって、本発明における突然変異体は、従来知られていなかったものである。

【0007】本明細書中において、本発明の突然変異体を s g r 2 と称し、この突然変異に関与する遺伝子を S G R 2、SGR 2 遺伝子の発現によって合成されるタンパク質を SGR 2 と称する。また、高等植物とは、根、茎、および葉を有する植物を意味し、下線部は斜字を示す。

【0008】請求項1記載の本発明は、高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示し、配列表の配列番号1に示すアミノ酸配列を有するタンパク質をコードするDNAの領域を含有する重力屈性遺伝子である。

【0009】請求項2記載の本発明は、高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示し、配列表の

配列番号1に示すアミノ酸配列において1または複数個のアミノ酸が欠失、置換または付加されたタンパク質をコードするDNAの領域を含有する重力屈性遺伝子である。

【0010】請求項3記載の本発明は、高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示し、配列表の配列番号2に示す塩基配列を有することを特徴とする重力屈性遺伝子である。

【0011】請求項4記載の本発明は、高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示し、配列表の配列番号2に示す塩基配列において1または複数個の塩基が欠失、置換または付加されたことを特徴とする重力屈性遺伝子である。

【0012】請求項5記載の本発明は、前記重力屈性遺伝子が配列表の配列番号3に示す塩基配列を含有し、該塩基配列は、前記タンパク質をコードするDNAの領域の5'上流側に配置され、かつ前記タンパク質をコードするDNAの領域に対するプロモーター活性を有することを特徴とする。

【0013】請求項6記載の本発明は、前記重力屈性遺伝子が配列表の配列番号3に示す塩基配列において1または複数個の塩基が欠失、置換または付加されたDNAの領域を含有し、該領域は、前記タンパク質をコードするDNAの領域の5'上流側に配置され、かつ前記タンパク質をコードするDNAの領域に対するプロモーター活性を有することを特徴とする。

【0014】請求項7記載の本発明は、前記重力屈性遺伝子が配列表の配列番号3に示す塩基配列を含有し、該塩基配列は、前記塩基配列の5'上流側に配置され、かつ前記塩基配列に対するプロモーター活性を有することを特徴とする。

【0015】請求項8記載の本発明は、前記重力屈性遺伝子が配列表の配列番号3に示す塩基配列において1または複数個の塩基が欠失、置換または付加されたDNAの領域を含有し、該領域は、前記塩基配列の5'上流側に配置され、かつ前記塩基配列に対するプロモーター活性を有することを特徴とする。

【0016】請求項9記載の本発明は、前記重力屈性遺伝子が、高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示し、配列表の配列番号4に示すcDNAであることを特徴とする。

【0017】本発明に従えば、以上のような特徴を有する重力屈性遺伝子の発現を制御することによって、胚軸および花茎の負の重力屈性を示さない高等植物を作出することが可能である。

【0018】請求項10記載の本発明は、請求項1~9のいずれかに記載の重力屈性遺伝子から転写されるmRNAとハイブリダイズすることを特徴とするDNAフラグメントである。

【0019】本発明に従えば、前記DNAフラグメント

を、化学的または酵素的に合成することができる。そのDNAフラグメントを高等植物に注入または導入すると、そのDNAフラグメントが、前記タンパク質をコードするDNAの領域から転写されるmRNAとハイブリダイズし、胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示すタンパク質の合成を阻害する。したがって、高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現が特異的に阻害されるので、胚軸および花茎の負の重力屈性を示さない高等植物を作出することが可能である。

【0020】請求項11記載の本発明は、請求項1～9のいずれかに記載の重力屈性遺伝子を含有することを特徴とする組み換えベクターである。

【0021】本発明に従えば、請求項1～9のいずれかに記載の重力屈性遺伝子を含有する組み換えベクターを用いて、アンチセンスRNAが合成されるDNAを構築し、高等植物に導入すると、前記タンパク質をコードするmRNAに対してアンチセンスなRNAが生産される。そのアンチセンスRNAが、正常な遺伝子から生産されるセンスRNAとハイブリダイズし、胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示すタンパク質の合成を阻害する。したがって、胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現が特異的に阻害され、胚軸および花茎の負の重力屈性を示さない高等植物を作出することが可能である。

【0022】請求項12記載の本発明は、請求項1～9のいずれかに記載の重力屈性遺伝子がコードするタンパク質の合成が阻害されたことを特徴とする高等植物である。

【0023】本発明に従えば、請求項1～9のいずれかに記載の重力屈性遺伝子がコードするタンパク質の合成が阻害されたことを特徴とする高等植物は、胚軸および花茎の負の重力屈性を示さない。したがって、このような高等植物を、壁面などの地面に垂直に近い面において、植物を用いる展示装置や栽培法などに利用することが可能である。

【0024】請求項13記載の本発明は、前記高等植物が、前記タンパク質をコードするDNAの領域から転写されるmRNAとハイブリダイズするアンチセンスRNAフラグメントを有することを特徴とする。

【0025】本発明に従えば、前記高等植物は、前記タンパク質をコードするDNAの領域から転写されるmRNAとハイブリダイズするアンチセンスRNAフラグメントを有する。したがって、前記タンパク質をコードするDNAの領域から転写されたmRNAに、アンチセンスのRNAフラグメントがハイブリダイズし、胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示すタンパク質の合成が阻害される。このようにして、胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現が特異的に阻害される。このような高等植物を、壁面などの地面に垂直に近い面において、植物を用いる展示装置や栽培法などに利用すること

が可能である。

【0026】

【発明の実施の形態】本発明の重力屈性遺伝子（以下SGR2遺伝子）は、本発明においては、後述のように、シロイヌナズナに突然変異を誘発させ、重力屈性を示さない突然変異体から単離し同定したが、その塩基配列を明らかにしているので、配列表の配列番号2に示す配列に基づいて化学合成することによっても取得することが可能である。また、前記配列に基づいて作成した合成オリゴヌクレオチドプローブまたはオリゴヌクレオチドプライマーを用い、シロイヌナズナ染色体DNAライブラリから、ポリメラーゼ・チェイン・リアクション（以下PCR）またはハイブリダイゼーションによって取得することも可能である。

【0027】以下に、高等植物のcDNAライブラリから、PCRによって本発明のDNAの一部を取得し、さらにそのDNAをプローブに用いたハイブリダイゼーションによって、本発明の重力屈性遺伝子のDNAを取得する方法を例示する。

【0028】たとえば、シロイヌナズナから、常法によって全RNAを抽出した後、オリゴdTセルロースを充填したカラムを用いてmRNAを単離し、得られたmRNAから逆転写酵素を用いてcDNAを合成する。このcDNAを、たとえばファージベクターに組み込み、この組み換えベクターでファージを形質転換し、宿主である大腸菌に感染させ、プラークを得る。これら一連の操作は、cDNAクローニングキットが市販されているのでこれらのキットを使用してもよい。

【0029】cDNAライブラリの中から目的とする植物の重力屈性遺伝子のcDNAを単離するために、本発明のSGR2遺伝子の塩基配列、またはcDNAの塩基配列をもとに設計したプライマーを合成し、それをPCR法によって植物cDNAから増幅して植物の重力屈性遺伝子の一部をコードするプローブDNAを得ることができる。次に、このプローブと上述のように作製した形質転換させたファージのプラークとハイブリダイズさせることによって、cDNAライブラリの中から目的とする植物の重力屈性遺伝子を選抜することができる。

【0030】上記のハイブリダイゼーションで選抜されたプラークからファージを採取し、さらにその中からファージDNAを回収し、塩基配列を決定することができる。その塩基配列中のタンパク質をコードするDNAの領域（オープン・リーディング・フレーム）から規定されるアミノ酸配列を、本発明の配列表の配列番号1に示すアミノ酸配列と比較し、相同性を確認することによって、目的とする植物の重力屈性遺伝子に対応するcDNA断片であることを特定することができる。

【0031】本発明は、配列表の配列番号1において、1または複数個のアミノ酸が欠失、置換または付加されたタンパク質をコードするDNAの領域を有し、かつ高

等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示す重力屈性遺伝子を含む。1または複数個のアミノ酸は、たとえば部位特異的変異法によって欠失、置換または付加することができ、かつ重力屈性形質を喪失させない限り、その個数は特に限定されない。

【0032】本発明は、前記タンパク質をコードするDNAの5'上流側に配置され、かつ前記タンパク質をコードするDNAの領域に対するプロモーター活性を有し、配列表の配列番号3に示す塩基配列において1または複数個の塩基が欠失、置換または付加されたDNAの領域をさらに含有することを特徴とする重力屈性遺伝子、配列表の配列番号2に示す塩基配列において1または複数個の塩基が欠失、置換または付加されたことを特徴とし、かつ高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示す重力屈性遺伝子、および前記塩基配列の5'上流側に配置され、かつ前記塩基配列に対するプロモーター活性を有し、配列表の配列番号3に示す塩基配列において1または複数個の塩基が欠失、置換または付加されたDNAの領域を含有することを特徴とする重力屈性遺伝子を含む。1または複数個の塩基は、たとえば部位特異的変異法によって欠失、置換または付加することができ、かつ重力屈性形質を喪失させない限り、その個数は特に限定されない。

【0033】高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示すタンパク質の合成を阻害することによって、高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質を欠失させ、胚軸および花茎の負の重力屈性を示さない高等植物を作出することができる。

【0034】まず高等植物の野生株に突然変異を誘発させ、負の重力屈性の形質を発現しない胚軸および花茎を有する該突然変異株から高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性を示すタンパク質をコードするDNAの領域を有する重力屈性遺伝子を同定する。次に、同定された遺伝子を用いて、高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性の形質発現を示すタンパク質の合成を阻害し、胚軸および花茎の負の重力屈性を示さない高等植物を作出する。

【0035】前記タンパク質の合成は、高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性を示すタンパク質をコードするDNAの領域から転写されるmRNAとハイブリダイズするアンチセンスRNAフラグメントによって、阻害することができる。このようにして、高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性を示すタンパク質の合成を阻害し、胚軸および花茎の負の重力屈性を示さない高等植物を作出することができる。

【0036】具体的に述べると、上述のようにして得られる重力屈性遺伝子をもとにして、正常な転写産物とハイブリダイズする相補的な転写産物をコードするDNAを設計する。そのDNAを、たとえば植物導入用のベクターに組み込み、そのベクターを形質導入したアグロバク

テリアを、浸潤法によって高等植物に感染させる。たとえば、ベクターが導入されたアグロバクテリアを浸潤用懸濁培地(1/2×MS培地、1/2×Gamborg B5ビタミン、5% ショ糖、0.5g/LMES、0.044μl ベンジルアミノプリン、0.02% Silwet L-77)に懸濁し、たとえばシロイヌナズナを用いるときには、花芽をつけた花茎をその懸濁液に浸すことで感染させ、ベクターを導入させる。導入された遺伝子から正常な転写産物に相補的な配列を有するアンチセンスRNA分子が生産され、正常な重力屈性遺伝子から生産されるセンスRNAとハイブリッドを形成し、高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性を示すタンパク質の合成が阻害され、胚軸および花茎の負の重力屈性を示さない高等植物を作出することができる。

【0037】以上のようにして得られる胚軸および花茎の負の重力屈性を示さない高等植物は、壁面などの地面に垂直に近い面において、植物を用いる展示装置などに利用できる。

【0038】たとえば、従来的高等植物は地面に垂直に近い面に植えると、負の重力屈性によって胚軸および花茎はすべて重力と反対の方向に成長するので、地面に垂直に近い面を利用して、効果的に植物を展示することは不可能であるが、本発明の胚軸および花茎の負の重力屈性を示さない高等植物は、地面に垂直に近い面にそれを植えると、重力と反対の方向に成長しないので、このような高等植物を用いて、効果的に展示を行うことが可能である。

【0039】胚軸および花茎の負の重力屈性を示さない高等植物は、地面に垂直に近い方向にそれを植えると、重力と反対の方向に成長しないので、たとえばハウス栽培において、壁面を効果的に利用して、胚軸および花茎の重力屈性を示さない高等植物を栽培することができ、スペースを有効に利用することができる。

【0040】

【実施例】(実施例1) 突然変異体の作出

シロイヌナズナの野生型は約300種知られているが、本発明においては、親株としてコロンビア株(以下C01)とWassilewskija株(以下WS)とを用いた。これらを親株とする種子に突然変異を誘発するために、C01を親株とする種子は、室温で0.3%EMSで16時間処理を行った。また、C01に60Gyの高速中性子線の処理を行って、突然変異を誘発させ、M2(突然変異が誘発された種子(M1種子)から生育した植物体が、自家受粉によってつけた種子)にしたLehle Seed社(アメリカ合衆国)から市販されている種子のストックから選別した。WSを親株とする種子は、T-DNAの導入によって突然変異が誘発された種子であり、E.I. Dupont de Nemours and Co. から得た。以上のような種子を、パーミキュライトとパーライト2型を1:1で混合し、表面にパーライト1型を敷いた鉢植えに播種し、2

3℃の室内に置いて、白色蛍光灯および植物生育用蛍光灯を使用して終日照射する条件下で生育させた。また、シロイヌナズナ用栄養塩溶液を4分の1に希釈したものを土が乾燥しないように与えた。シロイヌナズナ用栄養塩溶液の組成は5 mM 硝酸カリウム、2 mM 硫酸マグネシウム、2 mM 硝酸カルシウム、2.5 mM リン酸カリウム (2.5 mM リン酸水素カリウムと2.5 mM リン酸二水素カリウムを1:24の比で混合しpH 5.5に調整)、50 μM Fe-EDTA、70 μM ホウ酸、14 μM 塩化マンガン、0.5 μM 硫酸銅、1 μM 硫酸亜鉛、0.2 μM モリブデン酸ナトリウム、10 μM 塩化ナトリウム、0.01 μM 塩化コバルトである。

【0041】以上のような条件で、突然変異誘発処理を行ったシロイヌナズナを栽培し、その花茎が4~8 cmに伸長したところで鉢植えを90度傾け、花茎の重力屈性の状態を撮影した(図1のA、B)。鉢植えを傾けた状態で、90分23℃の暗所に置いた後、重力屈性の状態を撮影した(図1のC、D)。gは重力を表わし、矢印は重力の方向を示す。sgr2-1は、本発明において発見された突然変異シロイヌナズナの1個体に与えた名称である。

【0042】胚軸における重力屈性の状態についても観察を行うため、滅菌処理後、プレートで培養を行った。滅菌処理は、上述の突然変異誘発処理を行った種子を2%次亜塩素酸、0.02% Triton X-100を含むB5溶液(3.3 g/1 ガンボークB5培地用混合塩類)で30分処理の後、1回B5溶液で洗浄することによって行った。滅菌処理を行った種子をMurashige-Skoog (以下MS) プレートに播種し、培養した。MSプレートの組成は4.65 g/1 MS培地用混合塩、5 g/1 グランダム、10 g/1 ショ糖、0.1 g/1 ミオ・イノシトール、0.05% MES (水酸化カリウムでpH 5.7に調整した)、20 μg/1 チアミン塩酸塩、1 μg/1 ニコチン塩酸塩、1 μg/1 ビリドキシン塩酸塩、1 μg/1 ビオチンである。プレートに播種後、2~3日4℃の暗所に置いて、発芽を同調化させ、その後、1時間室温で赤色光を照射し発芽を誘導した。発芽し、胚軸が伸長するまで3日間23℃の暗所に置き、重力屈性の状態を撮影した(図2のA、B)。その後、プレートを90度傾けて12時間23℃の暗所に置き、再び重力屈性の状態を撮影した(図2のC、D)。gは重力を表わし矢印は重力の方向を示す。

【0043】観察を行った結果、重力屈性を示さない突然変異シロイヌナズナを複数個体得ることができた。

(実施例2) 重力屈性遺伝子の同定

これらの重力屈性を示さない個体を野生型のシロイヌナズナと人工受粉によって交配し、得られたF₁世代の種子を上述のように鉢植えを用いて栽培し、重力屈性の状

態を観察した。また、F₁世代同士を自家受精させ、得られたF₂世代の種子も同様に栽培し、上述と同様の方法で重力屈性の状態を観察した。その結果、F₁世代においては、全ての個体が重力屈性を示し、F₂世代においては、重力屈性を示す個体と示さない個体の分離比が約3:1になった。したがって、この重力屈性異常形質は劣性形質であり、その遺伝子は、劣性遺伝すると結論付けられた。

【0044】上述の様に、野生型と交配し、得られたF₁世代を自家受精させることによって複数個体得られたF₂世代のシロイヌナズナにおいて、重力屈性を示さないF₂世代の個体同士をそれぞれ人工受粉によって交配させた。負の重力屈性異常は、上述のように劣性形質であるので、交配の結果、相同染色体の同じ遺伝子座において変異が起こっている個体は、負の重力屈性を示さず、異なる遺伝子座に変異が生じている個体は、負の重力屈性を示す。その結果、この交配のF₁世代において重力屈性を示さないシロイヌナズナの1系統が得られた。その系統について10個体の突然変異シロイヌナズナが得られ、該突然変異体をsgr2-1~sgr2-10と称することにした。

【0045】SGR2遺伝子は、以下のようにポジショナルクローニング法によって単離した。

1) マッピング

SGR2遺伝子が染色体上のどこに位置するかを明らかにするために、マッピングを行った。野生型がColのsgr2-1と野生型がLandsberg (以下Ler)の個体とを交配し、F₂世代でsgr2表現型を示したものを選出し、ColとLerでポリモルフィズム(多型)を示すDNAマーカーとの連鎖を調べた。まず、数十個体のsgr2を用いて5本の染色体のそれぞれに位置するDNAマーカーで多型を調べた。用いたDNAマーカーを以下に示す。

第1染色体 ADH; alcohol dehydrogenase

第2染色体 m429; RFLP maker

第3染色体 GapC; glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

第4染色体 AG; Agamous

第5染色体 LFY3; Leafy

その結果、SGR2遺伝子は第1染色体上のDNAマーカーADHと連鎖を示し、SGR2が第1染色体上に座上がることが判明した。第1染色体上の詳細な位置を求めるために、約300個体(約600染色体)のsgr2を用いて解析を行ったところ、第1染色体のDNAマーカーUFO (Genetic Map 44.5cM)と強い連鎖が認められた。また、SGR2遺伝子座とUFOとの間で5本の染色体が組換えを起こしていた。さらに、その5本の染色体のうち、1本の染色体はUFOより南のDNAマーカーm402とSGR2との間で組み換えを起こしていた。このことから、第1染色体上で北から順に、UF

O、m402、SGR2と並び、1cMを約200kbと換算すると、SGR2とUFOとの距離は、 $5/600 \approx 0.83$ cM (約170kb)、m402とは $1/600 \approx 0.17$ cM (約30kb)と算出された。さらに染色体約1100本を追加して調べたところ、m402より南のDNAマーカーCm254 (RFLPマーカーm254近傍)とSGR2との間で2本の染色体は組み換えを起こしていた。したがって、Cm254から南に $2/1700 \approx 0.12$ cM (約20kb)の位置にSGR2があることが明らかになった。

【0046】UFO、Cm254は、CAPSマーカーであり、PCRによって多型を検出できる。PCRに必要なDNAの抽出には、シロイヌナズナの葉または鞘を用いた。微量遠心管に入れた上記の組織を乳棒で破碎し、CTABバッファー (3%セチルトリメチルアンモニウムブロミド、1.4M 塩化ナトリウム、0.2%

2-メルカプトエタノール、20mM EDTA、100mM Tris-HCl (pH8.0))を加え、60℃で静置し、クロロホルム抽出によって抽出した水溶液をエタノール沈殿し、DNAを回収した。回収されたDNAはTE溶液 (10mM Tris-HCl (pH8.0)、0.2mM EDTA)に溶解させた。PCR反応液は、1サンプルあたり、0.05μl TaKaRa Ex Taq (商品名:宝酒造社製)、1μl dNTP Mixture (TaKaRa Ex Taqに添付)、1μl 10×Ex Taq Buffer (TaKaRa Ex Taqに添付)、0.25μl primer F、0.25μl primer R、および6.45μl H₂Oに、サンプルのDNA溶液を1μl加え、全量を10μlにした。PCRの反応条件は、第1サイクル:94℃で1分を1サイクル、第2サイクル:92℃で30秒、60℃で30秒、および72℃で1分を1サイクルとして27サイクル、第3サイクル:72℃で3分を1サイクルとした。制限酵素処理は、1サンプルあたり、0.5μl 10×制限酵素バッファー、0.3μl 制限酵素、および4.2μl H₂Oを、PCR反応物10μlに加え、全量を15μlにし、処理に用いる酵素の至適温度で酵素反応を起こした。処理後、電気泳動で多型を検出した。

【0047】RFLPマーカーの場合は、DNAサザンハイブリダイゼーションによって、多型を検出した。DNAの調整は、液体窒素によって冷却した植物を乳鉢内で破碎し、基本的にPCR解析に用いた方法に則し、スケールアップしてDNAを回収した。TE溶液に溶かした後、RNAse酵素処理によるRNA分解を行い、フェノール/クロロホルム抽出を行い、水層からエタノール沈殿によって、DNAを回収した。DNAはTE溶液に溶解させた。回収した植物ゲノムを制限酵素で処理し、電気泳動でアガロースゲルに流した。ゲノム断片は、Hybond-N+ (商品名:アマシャム ファル

マシア バイオテック社製) フィルターにトランスファーした。サザンハイブリダイゼーションは、ECL direct nucleic acid labeling and detection system (商品名:アマシャム ファルマシア バイオテック社製)を用いて行った。検出には、Hyperfilm-MP (商品名:アマシャムファルマシア バイオテック社製) フィルムを用いた。

2) SGR2遺伝子近傍のゲノム解析

次に、図3を参照してSGR2遺伝子近傍のゲノム解析について詳しく述べる。

【0048】シロイヌナズナのゲノムプロジェクトによってUFOを含むBAC (Bacterial Artificial Chromosome) のF17F8クローンのシーケンスが明らかになった。さらに、BACクローンの末端シーケンスの情報、YAC (酵母人工染色体) にハイブリダイズするBACの情報、BACのフィンガープリントの情報などから、F17F8近傍のBACクローンの重なりが明らかとなった。そこで、Cm254近傍の末端を含む2つのBACクローンT4D9、F11B17をストックセンターから入手した。高速中性子線による突然変異によってゲノムに大きな欠失が予想されるsgr2-8、sgr2-9、sgr2-10変異株を、液体窒素によって冷却し、乳鉢内で破碎し、基本的にPCR解析に用いた方法に則し、スケールアップしてDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶かした後、RNAse酵素処理によるRNA分解を行い、フェノール/クロロホルム抽出を行い、水層からエタノール沈殿によって、DNAを回収し、TE溶液に溶解させた。このようにして抽出したDNAを、T4D9をプローブにして上述と同様の方法でサザンハイブリダイゼーションによる解析を行った。その結果、sgr2-10アレルのXbaI消化のレーンにおいて10kb以上のバンド1本がシフトしており、T4D9のT7側末端の近傍ゲノム構造に欠失または挿入などが起こっている可能性が示された。そこでXbaI断片の両末端からPCRマーカーを作成し、それを用いて新たにスモールTAC (Transformation-competent artificial chromosome) のTACライブラリー#1 (インサートサイズ20~50kb、平均30kb)をPCRを用いてスクリーニングした。PCR反応液は、1サンプルあたり、0.05μl TaKaRa Ex Taq (商品名:宝酒造社製)、1μl dNTP Mixture (TaKaRa Ex Taqに添付)、1μl 10×Ex Taq Buffer (TaKaRa Ex Taqに添付)、0.25μl primer F (任意)、0.25μl primer R (任意)、6.45μl H₂Oに、ライブラリーDNA溶液を1μl加え、全量を10μlにした。PCRの反応条件は、第1サイクル:94℃で1分を1サイクル、第2サイクル:92℃で30秒、60℃で30秒、および72℃で3分を1サイクルとして27サイクル、第3サ

イクル：72℃で3分を1サイクルとした。

【0049】その結果、消失していたXbaI断片を含む2つのTACクローン (small TAC2, small TAC4) を入手した。このsmall TAC4クローンを用いてSGR2近傍約26kbのシーケンスを、ABI377DNAシーケンサー (商品名：パーキンエルマー社製) を用いて解読したところ、この近傍に位置する6つの遺伝子予想コード領域が明らかとなった。

【0050】そこで、各推定遺伝子について各sgr2

sgr2-1 G→A (5025bp) の置換によって第20イントロンが切り出せないと推定

sgr2-2 G→A (1201bp) の置換によるナンセンス変異
Trp (TGG) →stop (TAG)

sgr2-3 G→A (2925bp) の置換によるミスセンス変異
Gly (GGG) →Arg (AGG)

sgr2-4 G→A (5025bp) の置換によって第20イントロンが切り出せないと推定

sgr2-5 C→T (2283bp) の置換によるナンセンス変異
Arg (CGA) →stop (TGA)

sgr2-6 G→A (2169bp) の置換によるミスセンス変異
Gly (GGT) →Arg (AGT)

sgr2-7 CTAGTCTATATGAAGTTGAAGAGGAGCGA
GTAGGTGTACCTの41bp (948bp-988bp) の欠失による
フレームシフト

sgr2-8 コード領域の一部が欠失と推定 (PCR解析によって)

sgr2-9 AG 2bp (3891bp-3892bp) の欠失による
フレームシフト

sgr2-10 -11bpより上流に約10000bpの欠失

sgr2-8のPCR解析は、8つのプライマーを用いて行い、これらのプライマーは、後述のようにクローニングしたcDNAの塩基配列の解読結果を用いて作製された。それぞれのプライマーを以下に示す。Primer 1~

Primer 1 5' -CTA AAG CAA TCC CAG ACG ACC
ATC-3' (転写開始点より上流)

Primer 2 5' -GCT ATA TGA GGT ACA TTG TGC-
3' (第4エクソン・第4イントロン境界)

Primer 3 5' -CAG ACT ATG TCG GAA AGG TG-
3' (第11エクソン・第11イントロン境界)

Primer 4 5' -GAT TTT GCTGCA CGT TCA CAG-
3' (第18エクソン上)

Primer 5 5' -CCA AAC CTG GTT GAA AAG TCC-
3' (第5イントロン・第6エクソン境界)

Primer 6 5' -GAG AAC ATG ATG GAG AAT CAG-
3' (第12エクソン上)

Primer 7 5' -GCA AAC TAG AGA GCT TTA GCC-
3' (第20イントロン上)

Primer 8 5' -TCA AGC GAC AGA GTT CGA ATG
TGG-3' (転写終了点より下流)

以上のようなプライマーを次のように組み合わせ、sgr2-8のゲノムDNAを用いてPCRを行い、得られ

アレル由来のDNAの塩基配列を、GENETYX-MAC Version 10.1 (商品名：ソフトウェア開発株式会社製) を用いて調べたところ、1つの遺伝子座PA-PLA1に全てのアレル由来の変異が見つかった。sgr2-1~sgr2-6は、EMSによって誘導された変異体、sgr2-7は、T-DNA導入ラインによって同定された変異体、およびsgr2-8~sgr2-10は、高速中性子線によって誘導された変異体であった。

【0051】以下に突然変異部位を示す。

【0051】以下に突然変異部位を示す。

Primer 4は、SGR2遺伝子に対してセンス方向のプライマーであり、Primer 5~Primer 8は、SGR2遺伝子に対してアンチセンス方向のプライマーである。

たPCR産物をアガロースゲルを用いて電気泳動を行った。

- a. Primer 1-Primer 5
- b. Primer 2-Primer 6
- c. Primer 3-Primer 7
- d. Primer 4-Primer 8
- e. Primer 1-Primer 6
- f. Primer 3-Primer 8
- g. Primer 1-Primer 8

PCR反応液は、1サンプルあたり、0.05 μ l TaKaRa Ex Taq (商品名:宝酒造社製)、1 μ l dNTP Mixture (TaKaRa Ex Taqに添付)、1 μ l 10 \times Ex Taq Buffer (TaKaRa Ex Taqに添付)、0.25 μ l primer F (任意)、0.25 μ l primer R (任意)、および6.45 μ l H₂Oに、サンプルのDNA溶液を1 μ l加え、全量を10 μ lにした。PCRの反応条件は、第1サイクル: 94 $^{\circ}$ Cで1分を1サイクル、第2サイクル: 92 $^{\circ}$ Cで30秒、60 $^{\circ}$ Cで30秒、および72 $^{\circ}$ Cで3分を1サイクルとして27サイクル、第3サイクル: 72 $^{\circ}$ Cで3分を1サイクルとした。

【0052】その結果、a、b、およびeについては野生型と同様の電気泳動バンドが確認できた。c、d、f、およびgについては全くバンドが確認できなかった。このことは、sg r 2-8におけるSGR 2遺伝子はプライマー6とプライマー7との間にある位置から下流の部分が欠失していることを示す。

【0053】以上のようにして得られた遺伝子の塩基配列を配列表の配列番号2に示し、配列番号3にプロモーターの塩基配列を示した。

(実施例3) SGR 2 cDNAのクローニング

SGR 2遺伝子の染色体上の位置が決定し、その塩基配列が決定された。その塩基配列のBLAST検索によって、2つのEST (Expression Sequencing Tag) が見出され、エキソンの一部が明らかとなった。検索には、Arabidopsis thaliana WU-BLAST2 Search (WU-BLAST: Washington University-Basic Local Alignment Search Tool) (<http://genome-www2.stanford.edu/cgi-bin/AtDB/nph-blast2atdb>)を用いた。この遺伝子の発現によって合成されるタンパク質の完全長のアミノ酸配列を決定するために、

- 1) 5' RACEを行い、転写産物の5'末端を決定し、
- 2) 3' RACEを行い、転写産物の3'末端を決定し、
- 3) 完全長と思われる転写産物から予想される全翻訳領域を含むcDNAをクローニングした。

1) SGR 2遺伝子の5'側末端の決定

SGR 2遺伝子の5'側末端の決定には、5' RACE System for Rapid Amplification of cDNA Ends, Version 2.0 (商品名: LIFE TECHNOLOGIES社)を用いた。キットに示されたプロトコルに従い、全RNAに対してGSP 1

(genespecific primer 1)、5' -GAG AAC A TG ATG GAG AATCAG-3' (第12エキソンに位置し、SGR 2遺伝子に対してアンチセンス方向)をプライマーとして用いて、逆転写反応を行い、cDNAを合成した。逆転写酵素はキットに添付のSuper Script II RTを用いた。続いて合成したcDNAに対して、キットに添付のTdT酵素を用いてcDNAの5'側をdCでテーリング (tailing) した。SGR 2遺伝子の5'側のPCR増幅には、5'側をdCでテーリングしたcDNAを鋳型として、GSP 2 (gene specific primer 2)、5' -CTG CCG TGA TT T GAC GAA AG-3' (第9エキソンに位置し、SGR 2遺伝子に対してアンチセンス方向)と、dC-TailにアニーリングするAbridged Anchor Primer (キットに添付)をプライマーとして用いた。PCR反応液は、プロトコルに従い、5 μ l 10 \times PCRバッファー、3 μ l 25mM MgCl₂、1 μ l 10mM dNTP Mixture、1 μ l 20 μ M GSP 2、2 μ l 10 μ M AAP (Abridged Anchor Primer)、0.5 μ l TaKaRa Ex Taq (宝酒造社製)、および32.5 μ l H₂Oに、dC-tailed cDNAを5 μ l加え、全量を50 μ lにした。PCRの反応条件は、第1サイクル: 94 $^{\circ}$ Cで2分を1サイクル、第2サイクル: 94 $^{\circ}$ Cで30秒、55 $^{\circ}$ Cで1分、および72 $^{\circ}$ Cで2分を1サイクルとして30サイクル、第3サイクル: 72 $^{\circ}$ Cで5分を1サイクルとした。

【0054】さらに、PCR産物の特異性を高めるためにPCR産物を希釈し、それを鋳型にnested PCRを行った。GSP 3 (gene specific primer 3)、5' -CAG TTT CTG GAA TCG GA A GC-3' (第5エキソンに位置し、SGR 2遺伝子に対してアンチセンス方向)と、5'側末端にアニーリングするAbridged Universal Amplification Primer (キットに添付)をプライマーに用いた。PCR反応液は、プロトコルに従い、5 μ l 10 \times PCRバッファー、3 μ l 25mM MgCl₂、1 μ l 10mM dNTP Mixture、1 μ l 20 μ M GSP 3、1 μ l 10 μ M AUAP (Abridged Universal Amplification Primer)、0.5 μ l TaKaRa Ex Taq (宝酒造社製)、および33.5 μ l H₂Oに、100倍に希釈した1回目のPCR反応物を5 μ l加え、全量を50 μ lにした。PCRの反応条件は、第1サイクル: 94 $^{\circ}$ Cで2分を1サイクル、第2サイクル: 94 $^{\circ}$ Cで30秒、55 $^{\circ}$ Cで1分、および72 $^{\circ}$ Cで2分を1サイクルとして30サイクル、第3サイクル: 72 $^{\circ}$ Cで5分を1サイクルとした。PCR産物は、pGEM-T Vector Systems (商品名: Promega社製)を用いてクローニングした。そのクローンをシーケンスすることによって、SGR 2遺伝子

の5'側末端を決定した。

2) SGR2遺伝子の3'側末端の決定

SGR2遺伝子の3'側末端の決定には、3' RACE System for Rapid Amplification of cDNA Ends (商品名: LIFE TECHNOLOGIES社製)を用いた。キットに示されたプロトコルに従い、全RNAに対してAdapter Primer (キットに添付)を用いて、逆転写反応を行いcDNAを合成した。逆転写酵素はキットに添付のSuper Script I RTを用いた。続いて合成したcDNAに対して、SGR2遺伝子の3'側のPCR増幅を行った。GSP2 (gene specific primer 2)、5'-GAT TTT GCT GCA CGT TCA CAG-3' (第18エクソンに位置し、SGR2遺伝子に対してセンス方向)と、3'側末端にアニーリングするAbridged Universal Amplification Primer (キットに添付)をプライマーとして用いた。PCR反応液は、プロトコルに従い、5μl 10×PCR バッファー、3μl 25mM MgCl₂、1μl 10mM dNTP Mixture、1μl 20μM GSP2、2μl 10μM AAP (Abridged Anchor Primer)、0.5μl TaKaRa Ex Taq (宝酒造社製)、および32.5μl H₂Oに、合成したcDNAを5μl加え、全量を50μlにした。PCRの反応条件は、第1サイクル: 94℃で2分を1サイクル、第2サイクル: 94℃で30秒、55℃で1分、および72℃で2分を1サイクルとして30サイクル、第3サイクル: 72℃で5分を1サイクルとした。

【0055】さらに、PCR産物の特異性を高めるために、PCR産物を希釈してnested PCRを行った。nested GSP (gene specific primer)、5'-GGA GAG ATC AAG ATA CTG CTC-3' (第22エクソンに位置し、SGR2遺伝子に対してセンス方向)と、3'側末端にアニーリングするAbridged Universal Amplification Primer (キットに添付)のプライマーを用いた。PCR反応液は、プロトコルに従い、5μl 10×PCR バッファー、3μl 25mM MgCl₂、1μl 10mM dNTP Mixture、1μl 20μM nested GSP、1μl 10μM MAUAP (Abridged Universal Amplification Anchor Primer)、0.5μl TaKaRa Ex Taq (宝酒造社製)、および33.5μl H₂Oに、100倍に希釈した1回目のPCR反応物を5μl加え、全量を50μlにした。PCRの反応条件は、第1サイクル: 94℃で2分を1サイクル、第2サイクル: 94℃で30秒、55℃で1分、および72℃で2分を1サイクルとして30サイクル、第3サイクル: 72℃で5分を1サイクルとした。PCR産物は、pGEM-T Vector Systems (商品名: Promega社製)を用いてクローニングした。そのクローンをシーケンスすることによって、S

GR2遺伝子のcDNAの3'側末端を決定した。

3) 全翻訳領域を含むcDNAのクローニング

1)、2)によって、転写産物の末端が予想され、最長の翻訳領域を含むcDNAをPCRで増幅しクローニングを行った。primer F1 5'-TTG GAT CCT CGT CTA AAG CTT CCT CC-3' (第1エクソン上、SGR2に対してセンス方向であって、プライマーの3~8bpはBamHI切断部位GGATCCに改変してある。) primer R1 5'-ATG GAT CCA ATG TGG CAA AAC CAT GTC G-3' (第22エクソン上ストップコドンより下流、SGR2に対してアンチセンス方向であって、プライマーの3~8bpはBamHI切断部位GGATCCに改変してある。)のプライマーを用いた。PCR反応液は、0.25μl TaKaRa Ex Taq (宝酒造社製)、5μl dNTP Mixture (TaKaRa Ex Taqに添付)、5μl 10×Ex Taq バッファー (TaKaRa Ex Taqに添付)、1.25μl primer F1、1.25μl primer R1、および32.25μl H₂Oに、cDNAを5μl加え、全量を50μlにした。PCRの反応条件は、第1サイクル: 95℃で1分を1サイクル、第2サイクル: 92℃で30秒、60℃で30秒、および72℃で1分を1サイクルとして27サイクル、第3サイクル: 72℃で3分を1サイクルとした。1回のPCR反応では、期待される長さのバンドが確認されなかったため、PCR産物を希釈してnested PCRを行った。primer F2 5'-CTG GAT CCT GAT GGA AGA TAG AG-3' (第1~第2エクソンをまたぐ、SGR2に対してセンス方向であって、プライマーの3~8bpはBamHI切断部位GGATCCに改変してある。) primer R2 5'-ACT GGA TCC TAC TTC TGC ACA GG-3' (第22エクソン上、primer F2よりストップコドン寄りであって、SGR2に対してアンチセンス方向、プライマーの4~9bpはBamHI切断部位GGATCCに改変してある。)をプライマーとして用いた。PCR反応液組成、および反応条件は上述と同様にした。PCR産物は、pGEM-T Easy Vector Systems (商品名: Promega社製)を用いてクローニングした。そのクローンをシーケンスすることによって、SGR2遺伝子のcDNAを決定した。

(実施例4) アミノ酸配列の決定と構造解析

このようにして得られたcDNAの塩基配列を上述のシーケンサーによって解読し、配列表の配列番号4に示した。さらに、その塩基配列から、GENETYX-MAC Version 10.1 (商品名: ソフトウェア開発株式会社製)を用いて、アミノ酸配列を決定し、配列表の配列番号1に示した。

【0056】配列表の配列番号2のDNAの塩基配列と配列番号4のcDNAの塩基配列とを比較し、エクソンとイントロンの位置を決定し、図4に示した。矩形部分はエクソンを表わし、矩形部分の間にある線部分はイントロンを表わす。左側および右側の白の矩形部分は、それぞれ5' UTR (untranslated region)、3' UTRを表わし、黒の矩形部分は翻訳領域を表わす。したがって、SGR2遺伝子は、5' UTRおよび3' UTRを含め、22個のエクソンを含む、5.8 kbのゲノムDNAにコードされている。10個のsgr2アレルのヌクレオチドの違いおよびその位置を、矩形部分の上下に示す。

【0057】また、図5はSGR2タンパクの構造を示した模式図である。SGR2タンパクは933のアミノ酸からなり、そのアミノ酸配列について、NCBI (National Center for Biotechnology Information) のAdvanced BLAST search (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>)を用いてホモロジー検索を行った。その結果、442aa～446aaにリバーゼコンセンサス配列、5

93aa～636aaにコイルド・コイル領域、および669aa～689aaにトランスメンブレンドメインが予想された。トランスメンブレンドメインは、TMPred (<http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED#form.html>)、コイルドコイル領域はCOILS (<http://www.ch.embnet.org/software/COILS#form.html>)を用いて構造予測を行った。

【0058】

【発明の効果】本発明によって、高等植物の花茎および胚軸の負の重力屈性を示す重力屈性遺伝子の塩基配列、およびアミノ酸配列が提供される。この塩基配列を利用して、高等植物の胚軸および花茎の負の重力屈性遺伝子の発現を制御し、胚軸および花茎の負の重力屈性を示さない高等植物を作出することが可能である。そのような高等植物を用いて、壁面など地面に垂直に近い面を利用して、植物を用いる展示装置および栽培法などに利用することが可能である。

【0059】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110>: 関西ティール・エル・オー株式会社

<120>: 重力屈性遺伝子、負の重力屈性の形質を発現しない胚軸および花茎を有する高等植物

<130>: 99051403

<160>: 4

<210>: 1

<211>: 933

<212>: PRT

<213>: Arabidopsis thaliana

<400>: 1

Met Glu Asp Arg Glu Thr His Leu Gly Thr Arg Glu Val Asn Glu Thr

1 5 10 15

Ser Pro Asp Leu Leu Lys Asn Thr Pro Ser Asn Ile Ala Arg Leu Glu

20 25 30

Asp Val Ile Glu Gln Cys His Gly Arg Gln Lys Tyr Leu Ala Gln Thr

35 40 45

Arg Ser Pro Ser Asp Gly Ser Asp Val Arg Trp Tyr Phe Cys Lys Val

50 55 60

Pro Leu Ala Glu Asn Glu Leu Ala Ala Ser Val Pro Arg Thr Asp Val

65 70 75 80

Val Gly Lys Ser Glu Tyr Phe Arg Phe Gly Met Arg Asp Ser Leu Ala

85 90 95

Ile Glu Ala Ser Phe Leu Gln Arg Glu Asp Glu Leu Leu Ser Leu Trp

100 105 110

Trp Lys Glu Tyr Ala Glu Cys Ser Glu Gly Pro Lys Leu Gln Val Asn

115 120 125

Ser Lys Lys Lys Ser Ile Glu Thr Pro Ser Glu Ala Ser Val Ser Ser

130 135 140

Ser Leu Tyr Glu Val Glu Glu Glu Arg Val Gly Val Pro Val Lys Gly
145 150 155 160
Gly Leu Tyr Glu Val Asp Leu Val Arg Arg His Cys Phe Pro Val Tyr
165 170 175
Trp Asn Gly Asp Asn Arg Arg Val Leu Arg Gly His Trp Phe Ala Arg
180 185 190
Lys Gly Gly Leu Asp Trp Leu Pro Ile Pro Glu Thr Val Ser Glu Gln
195 200 205
Leu Glu Val Ala Tyr Arg Asn Lys Val Trp Arg Arg Arg Ser Phe Gln
210 215 220
Pro Ser Gly Leu Phe Ala Ala Arg Ile Asp Leu Gln Gly Ser Ser Leu
225 230 235 240
Gly Leu His Ala Leu Phe Thr Gly Glu Asp Asp Thr Trp Glu Ala Trp
245 250 255
Leu Asn Val Asp Pro Ser Gly Phe Ser Gly Ile Val Gly Tyr Thr Gly
260 265 270
Asn Gly Ile Lys Leu Arg Arg Gly Tyr Ala Gly Ser Tyr Ser Pro Lys
275 280 285
Pro Thr Gln Glu Glu Leu Arg Gln Gln Lys Glu Glu Glu Met Asp Asp
290 295 300
Tyr Cys Ser Gln Val Pro Val Arg His Leu Val Phe Met Val His Gly
305 310 315 320
Ile Gly Gln Lys Gly Glu Lys Ser Asn Leu Val Asp Asp Val Gly Asn
325 330 335
Phe Arg Gln Ile Thr Ala Ala Leu Ala Glu Arg His Leu Thr Ser His
340 345 350
Gln Leu Ser Thr Gln Arg Val Leu Phe Ile Pro Cys Gln Trp Arg Lys
355 360 365
Gly Leu Lys Leu Ser Gly Glu Ala Ala Val Asp Lys Cys Thr Leu Asp
370 375 380
Gly Val Arg Arg Phe Arg Glu Met Leu Ser Ala Thr Val His Asp Val
385 390 395 400
Leu Tyr Tyr Met Ser Pro Ile Tyr Cys Gln Ala Ile Ile Asp Ser Val
405 410 415
Ser Lys Gln Leu Asn Arg Leu Tyr Leu Lys Phe Leu Lys Arg Asn Pro
420 425 430
Asp Tyr Val Gly Lys Ile Ser Ile Tyr Gly His Ser Leu Gly Ser Val
435 440 445
Leu Ser Tyr Asp Ile Leu Cys His Gln His Asn Leu Ser Ser Pro Phe
450 455 460
Pro Met Asp Ser Val Tyr Lys Lys Phe Phe Pro Asp Glu Glu Ser Pro
465 470 475 480
Pro Thr Pro Ala Lys Ala Asp Lys Pro Cys Ser Ser His Pro Ser Ser
485 490 495
Asn Phe Glu Pro Glu Lys Ser Asp Gln Leu Asn Asn Pro Glu Lys Ile
500 505 510
Thr Gly Gln Asp Asn Asn Thr Met Ala Lys Glu Pro Thr Val Leu Glu
515 520 525
His His Asp Val Ile Gln Glu Asp Pro Ser Leu Ile Ser Asp Ser Val
530 535 540

Val Ala Asn Val Gly Leu Glu Arg Arg Gly Gly Gln Glu Asp Asp His
545 550 555 560
His Asp Ser Ser Gly Ala Ile Ser Ser Gln Asp Val Pro Asp Gly Ala
565 570 575
Asp Cys Arg Thr Pro Asp Ser Pro Ser Cys Ser Gln Glu Gln Ser Trp
580 585 590
Asp Lys Glu Ser Val Asn Ser Asn Asn Glu Glu Arg Ile Lys Leu Leu
595 600 605
Gln Asp Glu Val Asn Ser Leu Arg Ser Lys Val Ala Gln Leu Leu Ser
610 615 620
Glu Asn Ala Arg Ile Leu Ser Asp Glu Lys Ala Lys Thr Ser Val Ala
625 630 635 640
Pro Lys Glu Leu Asn Asn Glu Lys Val Gln Thr Glu Asp Ala Asp Ala
645 650 655
Pro Thr Ser Phe Thr Pro Phe Ile Lys Tyr Gln Lys Leu Glu Phe Lys
660 665 670
Val Asp Thr Phe Phe Ala Val Gly Ser Pro Leu Gly Val Phe Leu Ala
675 680 685
Leu Arg Asn Ile Arg Leu Gly Ile Gly Lys Gly Lys Asp Tyr Trp Glu
690 695 700
Glu Glu Asn Ala Ile Glu Glu Met Pro Ala Cys Arg Arg Met Phe Asn
705 710 715 720
Ile Phe His Pro Tyr Asp Pro Val Ala Tyr Arg Val Glu Pro Leu Val
725 730 735
Cys Lys Glu Tyr Leu Pro Glu Arg Pro Val Ile Ile Pro Tyr His Arg
740 745 750
Gly Gly Lys Arg Leu His Ile Gly Leu Gln Asp Phe Arg Glu Asp Phe
755 760 765
Ala Ala Arg Ser Gln Arg Ile Met Asn His Phe Asp Ser Val Arg Thr
770 775 780
Arg Val Leu Thr Ile Cys Gln Ser Lys Ser Ala Asp Asn Leu Asp Glu
785 790 795 800
Met Glu Glu Thr Asp Asp Glu Lys Asp Asp Arg Ser Tyr Gly Ser Leu
805 810 815
Met Ile Glu Arg Leu Thr Gly Thr Arg Asp Gly Arg Ile Asp His Met
820 825 830
Leu Gln Glu Lys Thr Phe Glu His Pro Tyr Leu Gln Ala Ile Gly Ala
835 840 845
His Thr Asn Tyr Trp Arg Asp Gln Asp Thr Ala Leu Phe Ile Ile Lys
850 855 860
His Leu Tyr Arg Glu Leu Pro Asp Gly Pro Asn Ser Pro Thr Glu Ser
865 870 875 880
Thr Glu Gly Asp Asp Ser Pro Lys Asp Ser Ser Arg Pro His Ser Trp
885 890 895
Ile Asp Arg Arg Glu Ala Asp Tyr Asp Asp Glu Glu Leu Pro Leu Thr
900 905 910
Phe Ser Asp Lys Gln Ile Thr Arg Ser Phe Ser Ala Glu Ala Lys Lys
915 920 925
Tyr Leu Lys Lys Pro
930

<;210>; 2
 <;211>; 5736
 <;212>; DNA
 <;213>; *Arabidopsis thaliana*
 <;220>;
 <;221>; 5' UTR
 <;222>; (1).. (76)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (77).. (259)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (260).. (466)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (467).. (585)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (586).. (687)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (688).. (826)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (827).. (1009)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (1010).. (1127)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (1128).. (1283)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (1284).. (1489)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (1490).. (1561)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (1562).. (1650)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (1651).. (1803)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (1804).. (1958)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (1959).. (2009)
 <;220>;

<;221>; intron
 <;222>; (2010).. (2135)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (2136).. (2306)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (2307).. (2400)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (2401).. (2550)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (2551).. (2741)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (2742).. (2807)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (2808).. (2900)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (2901).. (3422)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (3423).. (3624)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (3625).. (3687)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (3688).. (3793)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (3794).. (3913)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (3914).. (4004)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (4005).. (4076)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (4077).. (4234)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (4235).. (4336)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (4337).. (4444)

<;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (4445).. (4540)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (4541).. (4616)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (4617).. (4679)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (4680).. (4789)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (4790).. (4837)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (4838).. (4919)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (4920).. (5024)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (5025).. (5183)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (5184).. (5231)
 <;220>;
 <;221>; intron
 <;222>; (5232).. (5310)
 <;220>;
 <;221>; exon
 <;222>; (5311).. (5559)
 <;220>;
 <;221>; 3' UTR
 <;222>; (5560).. (5736)
 <;400>; 2

attcaaatca aaaatcttta atctttctgt taaattctcg tctaaagctt cctccttta
 cccctctgt atcgtggtat gtgttgatt ctttatttc tctgtagggt ttgtttaa
 tttcaataat tgatgccga acagattaga aacttgtagt tgattcgaaa ttagacttc
 ttgtgtttc tgattaccga ttaggtttt tgtgtgttg taagtctaaa gttgatgc
 ttatgatttt cttgatcag atg gaa gat aga gag aca cat tta gga act cgg
 gag gtt aat gaa aca tct cct gat ttg tta aag aac acg cct tcg aac
 att gcg agg ttg gaa gat gtg att gag caa tgc cat ggt aga caa aag
 tat ctt gct cag act aga agt cca tct gat ggg agt gat gtt cgg tgg
 tac ttt tgt aag gtt cct ttg gct gaa aat ggtgagtcta attggcttaa
 ttggttggtt tgagggttta atagagaatg caattgttg tttgtcgaa atgtctaata
 gctggattaa agatgtaatg tgttattgtc tttctgca gag tta gct gct tca
 gta cct cgc act gac gta gta gga aag agt gag tat ttc cgt ttt ggt
 atg agg gat tct ctt gcg att gag gcg tct ttc ttg cag gttctcttc

ttcttctaag cttttgtggt tttacgatgt atttgtatat ctcgacaagt tcttgccctc
 tggctgtttg gtccaagatt tgaatgaaac tatcatatct gataatattt tgggatatt
 gtgctatag aga gaa gat gag ttg ttg tca ctc tgg tgg aaa gag tac gc
 gaa tgc agc gaa ggt ccg aaa ctg caa gtt aat tct aaa aag aaa tca
 att gaa act cct tca gaa gct tcc gtg tcc tct agt cta tat gaa gtt
 gaa gag gag cga gta ggt gta cct gtt aag ggt ggg cta tat gag
 gtacattgtg cagatattta aagaatgttt tagaagtctc ttgtaaatit tacgtgttg
 gccagtagag tccttgtgtg caatccatat ttctgaccac ggaactggaa ttctgcag
 gtg gac ttg gtg agg agg cat tgt ttt ccc gtg tac tgg aat gga gat
 aat cgg cgt gtg ctt aga ggt cac tgg ttt gct cgt aaa ggt ggc cta
 gac tgg ctt ccg att cca gaa act gtt tct gag cag ttg gag gtt gca
 tat cgt aac aag gttagatc tttctgtgga atacaatttg aatttggat
 cccatttgc ctagaactag aagtaattga tgcatttctg ttaaggttca taaatccac
 aaagctatct ctgtttacat tttatctctt tctttgtat agttctatgc gtatatatt
 ttgatgatat gacaatagca ccaattactt tggacttttc aaccag gtt tgg cgc
 aga aga agt ttt caa ccc tct ggg ctt ttt gca gct cgt att gat ttg
 cag ggt tct agt ctg gtatgtgttt gatttcatgg gaaagaactg taatttttcc
 gccagtataa tggttgcata gataacatta tctgaagtcg tatatgtag gga ctc ca
 gct ctc ttt act ggg gag gat gac acc tgg gaa gcg tgg ctt aat gtt
 gat cct tct ggg ttc tct ggc atc gtt gga tat act ggg aat gga att
 aag ttg aga cgt ggt tat gct ggc tcc tac tct cca aaa cct acg cag
 gttttagact attctgattt attttcgtaa ctgtctttga ctctataact accagctc
 aatgaaaaat cgagttaact tccatttcta tatttttctt attagctggt tagtgttct
 gtgattgaac acacatttct tgtgcatttt tttag gaa gaa ctt cgc cag caa
 aag gag gaa gag atg gat gac tat tgt tct caa gtatgtttta gtatactt
 gttttccatg aatggcattt gcatatctga tctctgtcgt cttattttta aaatatctc
 aaatttgaag ctctctgaaa ctgttctttt gtgttatttt ttccag gtc cct gtt
 cgg cat ctt gta ttt atg gtt cat ggt att ggc caa aaa gga gaa aag
 tct aat ctt gtt gac gat gtt gga aac ttt cgt caa atc acg gca gct
 tta gcg gaa cgt cat cta acc tct cat cag ctc agc act caa cga gtt
 ctt ttc atc cca tgc cag gtgctatac atgtattttt atcccccttct
 gttttcatct ctgtatagta tgatcttact ttgtagatc tgtctttctc tattgtttt
 gtag tgg aga aag ggt cta aag cta agt ggt gaa gct gct gtt gat aaa
 tgt act tta gac ggt gta cgg cgt ttc cga gag atg cta agc gca act
 gtt cat gat gtg tta tac tac atg agc ccc att tat tgt cag gct ata
 att gat tgc gtattgatat atcccaaatt ttatgctctc tctgtcttct
 taccaaattg aaacctattc gtgattgagt ttttagattt tgtgacacca gaaaacctt
 atagatatgt ttactttaat tttctgtatt gttataactg ataactctgt ttagtatga
 aagtgaattg tgctccattt tctgtttgca g gtt tca aag caa ctg aat aga
 ctg tat cta aaa ttt tta aag cgg aat cca gac tat gtc gga aag
 gtgccatct tgtttgtct ttccattcaa ttgttgactg gtgtaagctt gcatgaagt
 ggaattcatg gtctgttcat ggacatatca cag att tcc att tat gga cat tct
 ctg ggg agt gtt ctc tcc tat gac atc tta tgt cat cag cac aac ttg
 tca tcc cca ttt cca atg gat tca gta tac aag aaa ttt ttc cca gat
 gaa gaa tct cct cca act cca gct aaa gct gac aaa cct tgt agt tca
 cat cca tca tca aat ttt gag cca gag aaa tct gac cag ttg aat aac
 ccc gag aaa atc aca ggt caa gat aat aac acg atg gct aaa gaa cca
 aca gta ttg gag cat cac gat gtc atc cag gaa gat cct tca ttg atc
 tct gat tct gtt gtg gcc aac gtg ggt ttg gaa aga cga ggt ggc cag
 gaa gat gac cat cat gat tct agt ggt gct ata tcc tca cag gat gtt

cca gat gga gcg gac tgt aga acg cct gat tct cca tca tgt tct caa
 gaa caa tca tgg gat aaa gaa agt gtc aac tct aat aat gag gag aga
 atc aag ttg tta caa gat gag gtaaatatcg gcactttcaa ctgttcattc
 ttggatgaga tatgcagttt aggttcttgt aagctttcaa ctcttgtgtt catagcatc
 ggtactttct tagttttgtg ttctctgtgg aagtgtgtc cagtttcttt actgtctga
 cgaacagag aagtagttat gtttcattg atgtagtta ttgtatccc ag gtt aa
 tca ttg agg tca aaa gtc gca caa ctg cta tca gag aat gcc aga ata
 tta tgg gat ggtattgtt ctgacccttg attctatct tcccatatt
 ttgagttgtg ttgaaaact tctttatgt acatcttagt gatgatga aatgatgt
 tcaaca gaa aaa gcc aag aca tct gtg gcg cct aag gag ctc aac aac
 gag aag gtg caa act gaa gat gcc gat gca cct aca agc ttt act cct
 ttt atc aag tac caa aag ctt gag ttc aag gtctgggatt gtacaattaa
 aatataaaa tctcattcag aaactacact gaaaaagtc attctaactc ttaactgca
 attctgtca g gtt gac act ttc ttt gca gtt ggg tct cct ctt gga gtt
 ttt ctt gcc ctt cga aat ata cgt ctt ggg ata ggtaatactt atttatga
 tttcaggatt gtgaaaaca gagatccaag aatttttgt tttttcttg tatgttctt
 acgtgctat tgaattgctt gttaccctt ccttgcaag tctctttata tgcctaaa
 gctgtcaat atgtgtta ggt aag gga aaa gat tac tgg gaa gag gag aat
 gct att gaa gag atg cca gct tgt cgt cga atg ttc aat ata ttt cac
 ccc tat gat cct gtt gca tat aggttagtct tcatgaaat aaaacagctt
 gtagctagtt tatgatatcg ctgtcttgt taccttctt tgaagtgtg taacgcaa
 taaacttttg ttacacgc aga gtg gag cca ctt gtc tgc aaa gag tac ctt
 ccc gaa cga ccc gtt att att ccc tac cac aga gga ggc aag cgg ttg
 cat att gga tta cag gtacttgtaa tttgtggtt tgggtttcg tttacttcc
 tcttctaatt tgttgcct atgtaatgtt ctatag gat ttc aga gaa gat ttt
 gct gca cgt tca cag aga ata atg aat cat ttt gat tca gta agg
 gtgtgtgtt tcagacttct aattactttt atctatgtt tagtgtgacc ccaagttgt
 atctttgtg ttcaatgta caaaatactt acctttaat tctcatgcag aca aga
 gtt ctc act att tgt caa tcc aaa agt gca gat aac cta gac
 ggtaaaaag ttgtacttc gcaaggtttt ttctattac ctctgatgta cttctaagt
 tacttgcatg tgtgatgaa ca gag atg gaa gaa act gat gac gaa aag gat
 gat agg tcc tat ggt tcc tta atg ata gag aga tta act gga act cga
 gac ggt cgg ata gat cac atg ctc cag gtgaagttt gatgcatttc
 cacctaattt ataactttta tgattttgtt gcattcacct ttctgttgg ttcttggat
 aaagaatcag tatgtactag atttgctaa agctctctag ttgcatata atgattgct
 aaatatttg gtgatgcag gag aaa acc ttt gag cat ccg tat cta caa gca
 ata gga gct cat acg taagtgaac ttttcattgc ttacacatta catgtaacgt
 tttagagcaa aaactcaaga ctgctatata ctgtgcagg aac tat tgg aga gat
 caa gat act gct ctt ttc ata att aaa cac ttg tat cgc gag tta cca
 gac gga cca aac tgg ccc acg gaa tcc acc gaa gga gat gat agt cca
 aaa gac tca agt aga cct cat agc tgg ata gac aga aga gag gct gat
 tat gat gat gaa gag ctt cct tta aca ttc tcc gac aaa caa atc act
 aga agc ttc tct gca gaa gcc aag aaa tat ttg aag aag cct
 taagacttg accgtaggtt tatatgtat atccggtgaa agctccctga tttgtttt
 gtttctgtg cagaagtaac atctagtga gaaatgtga aaagtaaaaa ctccgacat
 gttttgccac attgtaacca taattttaca tataataaag caaaacaatg aaagctt
 <;210>; 3
 <;211>; 1181
 <;212>; DNA
 <;213>; Arabidopsis thaliana

<;220>;

<;221>; promoter

<;222>; (1).. (1181)

<;400>; 3

ggatccagat cgctgccaca agaacagtcc atttccgccca tcgaccgaac atggtcctg
gaggcggaag atgtttccgg tgaactttg tttctccgtc gtcgaaggag gctcggta
gtcggagttt atctgaaca tctctgatac gaggtctcat atacaaggga agatgattg
tgttgaccga tgcttgcaaa aaagcgttta gttgttcac taccgctttt gatctttgt
caataaaagg gattttgggt tttgatgtt aattttttta ttttatttta acaagtgc
tattttaaat gttttaggta aaaatgggtt agttgggtatt gatttaggca acactattt
ttttgctttg aagtgtagaa aacgtaaact gtcaaaataa acgtaaatga aaacaaaga
gtgggtgagaa ttaagggaatc ttgcacctta gactaagaat caaggaccat gtcaatatac
tatgtgttag accaacgaat ttcttattgg caaagcattt aaatttatta tagtggtta
gattggtatg gttatgagga tgaggtagca caaatgatga acttctaat tctaaccat
caaaaagaag tattttgaag gtttcaaagc tacgattctt ttgtaagaa tctacgaag
tgaccaacaa gtaagtaaca tagagcctca ttagatccca aattttgtaa tcctttggc
tttgctatac cataatcgca agtatcttcc taaaaatcac tatcgggtgga gtgattaag
taaaatggag ctgttaattt atcattttcc ataattcaaa acacacatgc ttgctatct
taaataacac actattgaaa caattttgtt agatcaacac caacacattt tattttgac
tttgcaaat ttatccttca cttgtaacaa caagacaaat tggttcgttt ttttcgaaa
tatgacttgg catctacgtg gcagtgggtt aagtagatga cagtacacgc aaccgctga
gcaaagtttc gttgggttct cttctctcac gaatattctt caataccaac aaaaccaat
caattcgatt tcccagctgt cactcttctt tttcaaacga cctttttttt ttaatttgt
tcttcttctt ctttctaatt ctcctctcgc gatttagctt t

<;210>; 4

<;211>; 3052

<;212>; DNA

<;213>; Arabidopsis thaliana

<;220>;

<;221>; 5' UTR

<;222>; (1).. (76)

<;220>;

<;221>; CDS

<;222>; (77).. (2875)

<;220>;

<;221>; 3' UTR

<;222>; (2876).. (3052)

<;400>; 4

attcaaatca aaaatcttta atctttctgt taaattctcg tctaaagctt cctccttta 60
ccccctctgt atcgtg atg gaa gat aga gag aca cat tta gga act cgg gag 112
Met Glu Asp Arg Glu Thr His Leu Gly Thr Arg Glu
1 5 10
gtt aat gaa aca tct cct gat ttg tta aag aac acg cct tcg aac att 160
Val Asn Glu Thr Ser Pro Asp Leu Leu Lys Asn Thr Pro Ser Asn Ile
15 20 25
gcg agg ttg gaa gat gtg att gag caa tgc cat ggt aga caa aag tat 208
Ala Arg Leu Glu Asp Val Ile Glu Gln Cys His Gly Arg Gln Lys Tyr
30 35 40
ctt gct cag act aga agt cca tct gat ggg agt gat gtt cgg tgg tac 256

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Ala | Gln | Thr | Arg | Ser | Pro | Ser | Asp | Gly | Ser | Asp | Val | Arg | Trp | Tyr | |
| 45 | | | | | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | |
| ttt | tgt | aag | gtt | cct | ttg | gct | gaa | aat | gag | tta | gct | gct | tca | gta | cct | 304 |
| Phe | Cys | Lys | Val | Pro | Leu | Ala | Glu | Asn | Glu | Leu | Ala | Ala | Ser | Val | Pro | |
| | | | | 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | |
| cgc | act | gac | gta | gta | gga | aag | agt | gag | tat | ttc | cgt | ttt | ggg | atg | agg | 352 |
| Arg | Thr | Asp | Val | Val | Gly | Lys | Ser | Glu | Tyr | Phe | Arg | Phe | Gly | Met | Arg | |
| | | | | 80 | | | | | 85 | | | | | 90 | | |
| gat | tct | ctt | gcg | att | gag | gcg | tct | ttc | ttg | cag | aga | gaa | gat | gag | ttg | 400 |
| Asp | Ser | Leu | Ala | Ile | Glu | Ala | Ser | Phe | Leu | Gln | Arg | Glu | Asp | Glu | Leu | |
| | | | | 95 | | | | | 100 | | | | | 105 | | |
| ttg | tca | ctc | tgg | tgg | aaa | gag | tac | gca | gaa | tgc | agc | gaa | ggg | ccg | aaa | 448 |
| Leu | Ser | Leu | Trp | Trp | Lys | Glu | Tyr | Ala | Glu | Cys | Ser | Glu | Gly | Pro | Lys | |
| | | | | 110 | | | | | 115 | | | | | 120 | | |
| ctg | caa | gtt | aat | tct | aaa | aag | aaa | tca | att | gaa | act | cct | tca | gaa | gct | 496 |
| Leu | Gln | Val | Asn | Ser | Lys | Lys | Lys | Ser | Ile | Glu | Thr | Pro | Ser | Glu | Ala | |
| 125 | | | | | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | |
| tcc | gtg | tcc | tct | agt | cta | tat | gaa | gtt | gaa | gag | gag | cga | gta | ggg | gta | 544 |
| Ser | Val | Ser | Ser | Ser | Leu | Tyr | Glu | Val | Glu | Glu | Glu | Arg | Val | Gly | Val | |
| | | | | | 145 | | | | | 150 | | | | 155 | | |
| cct | gtt | aag | ggg | ggg | cta | tat | gag | gtg | gac | ttg | gtg | agg | agg | cat | tgt | 592 |
| Pro | Val | Lys | Gly | Gly | Leu | Tyr | Glu | Val | Asp | Leu | Val | Arg | Arg | His | Cys | |
| | | | | 160 | | | | | 165 | | | | | 170 | | |
| ttt | ccc | gtg | tac | tgg | aat | gga | gat | aat | cgg | cgt | gtg | ctt | aga | ggg | cac | 640 |
| Phe | Pro | Val | Tyr | Trp | Asn | Gly | Asp | Asn | Arg | Arg | Val | Leu | Arg | Gly | His | |
| | | | | 175 | | | | | 180 | | | | | 185 | | |
| tgg | ttt | gct | cgt | aaa | ggg | ggc | cta | gac | tgg | ctt | ccg | att | cca | gaa | act | 688 |
| Trp | Phe | Ala | Arg | Lys | Gly | Gly | Leu | Asp | Trp | Leu | Pro | Ile | Pro | Glu | Thr | |
| | | | | 190 | | | | | 195 | | | | | 200 | | |
| gtt | tct | gag | cag | ttg | gag | gtt | gca | tat | cgt | aac | aag | gtt | tgg | cgc | aga | 736 |
| Val | Ser | Glu | Gln | Leu | Glu | Val | Ala | Tyr | Arg | Asn | Lys | Val | Trp | Arg | Arg | |
| 205 | | | | | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | |
| aga | agt | ttt | caa | ccc | tct | ggg | ctt | ttt | gca | gct | cgt | att | gat | ttg | cag | 784 |
| Arg | Ser | Phe | Gln | Pro | Ser | Gly | Leu | Phe | Ala | Ala | Arg | Ile | Asp | Leu | Gln | |
| | | | | 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | |
| ggg | tct | agt | ctg | gga | ctc | cat | gct | ctc | ttt | act | ggg | gag | gat | gac | acc | 832 |
| Gly | Ser | Ser | Leu | Gly | Leu | His | Ala | Leu | Phe | Thr | Gly | Glu | Asp | Asp | Thr | |
| | | | | 240 | | | | | 245 | | | | | 250 | | |
| tgg | gaa | gcg | tgg | ctt | aat | | | | | | | | | | | |

| | |
|---|------|
| atg gtt cat ggt att ggc caa aaa gga gaa aag tct aat ctt gtt gac | 1072 |
| Met Val His Gly Ile Gly Gln Lys Gly Glu Lys Ser Asn Leu Val Asp | |
| 320 325 330 | |
| gat gtt gga aac ttt cgt caa atc acg gca gct tta gcg gaa cgt cat | 1120 |
| Asp Val Gly Asn Phe Arg Gln Ile Thr Ala Ala Leu Ala Glu Arg His | |
| 335 340 345 | |
| cta acc tct cat cag ctc agc act caa cga gtt ctt ttc atc cca tgc | 1168 |
| Leu Thr Ser His Gln Leu Ser Thr Gln Arg Val Leu Phe Ile Pro Cys | |
| 350 355 360 | |
| cag tgg aga aag ggt cta aag cta agt ggt gaa gct gct gtt gat aaa | 1216 |
| Gln Trp Arg Lys Gly Leu Lys Leu Ser Gly Glu Ala Ala Val Asp Lys | |
| 365 370 375 380 | |
| tgt act tta gac ggt gta cgg cgt ttc cga gag atg cta agc gca act | 1264 |
| Cys Thr Leu Asp Gly Val Arg Arg Phe Arg Glu Met Leu Ser Ala Thr | |
| 385 390 395 | |
| gtt cat gat gtg tta tac tac atg agc ccc att tat tgt cag gct ata | 1312 |
| Val His Asp Val Leu Tyr Tyr Met Ser Pro Ile Tyr Cys Gln Ala Ile | |
| 400 405 410 | |
| att gat tcg gtt tca aag caa ctg aat aga ctg tat cta aaa ttt tta | 1360 |
| Ile Asp Ser Val Ser Lys Gln Leu Asn Arg Leu Tyr Leu Lys Phe Leu | |
| 415 420 425 | |
| aag cgg aat cca gac tat gtc gga aag att tcc att tat gga cat tct | 1408 |
| Lys Arg Asn Pro Asp Tyr Val Gly Lys Ile Ser Ile Tyr Gly His Ser | |
| 430 435 440 | |
| ctg ggg agt gtt ctc tcc tat gac atc tta tgt cat cag cac aac ttg | 1456 |
| Leu Gly Ser Val Leu Ser Tyr Asp Ile Leu Cys His Gln His Asn Leu | |
| 445 450 455 460 | |
| tca tcc cca ttt cca atg gat tca gta tac aag aaa ttt ttc cca gat | 1504 |
| Ser Ser Pro Phe Pro Met Asp Ser Val Tyr Lys Lys Phe Phe Pro Asp | |
| 465 470 475 | |
| gaa gaa tct cct cca act cca gct aaa gct gac aaa cct tgt agt tca | 1552 |
| Glu Glu Ser Pro Pro Thr Pro Ala Lys Ala Asp Lys Pro Cys Ser Ser | |
| 480 485 490 | |
| cat cca tca tca aat ttt gag cca gag aaa tct gac cag ttg aat aac | 1600 |
| His Pro Ser Ser Asn Phe Glu Pro Glu Lys Ser Asp Gln Leu Asn Asn | |
| 495 500 505 | |
| ccc gag aaa atc aca ggt caa gat aat aac acg atg gct aaa gaa cca | 1648 |
| Pro Glu Lys Ile Thr Gly Gln Asp Asn Asn Thr Met Ala Lys Glu Pro | |
| 510 515 520 | |
| aca gta ttg gag cat cac gat gtc atc cag gaa gat cct tca ttg atc | 1696 |
| Thr Val Leu Glu His His Asp Val Ile Gln Glu Asp Pro Ser Leu Ile | |
| 525 530 535 540 | |
| tct gat tct gtt gtg gcc aac gtg ggt ttg gaa aga cga ggt ggc cag | 1744 |
| Ser Asp Ser Val Val Ala Asn Val Gly Leu Glu Arg Arg Gly Gly Gln | |
| 545 550 555 | |
| gaa gat gac cat cat gat tct agt ggt gct ata tcc tca cag gat gtt | 1792 |
| Glu Asp Asp His His Asp Ser Ser Gly Ala Ile Ser Ser Gln Asp Val | |
| 560 565 570 | |
| cca gat gga gcg gac tgt aga acg cct gat tct cca tca tgt tct caa | 1840 |
| Pro Asp Gly Ala Asp Cys Arg Thr Pro Asp Ser Pro Ser Cys Ser Gln | |

| | | | |
|---|-----|-----|------|
| 575 | 580 | 585 | |
| gaa caa tca tgg gat aaa gaa agt gtc aac tct aat aat gag gag aga | | | 1888 |
| Glu Gln Ser Trp Asp Lys Glu Ser Val Asn Ser Asn Asn Glu Glu Arg | | | |
| 590 | 595 | 600 | |
| atc aag ttg tta caa gat gag gtt aac tca ttg agg tca aaa gtc gca | | | 1936 |
| Ile Lys Leu Leu Gln Asp Glu Val Asn Ser Leu Arg Ser Lys Val Ala | | | |
| 605 | 610 | 615 | 620 |
| caa ctg cta tca gag aat gcc aga ata tta tcg gat gaa aaa gcc aag | | | 1984 |
| Gln Leu Leu Ser Glu Asn Ala Arg Ile Leu Ser Asp Glu Lys Ala Lys | | | |
| 625 | 630 | 635 | |
| aca tct gtg gcg cct aag gag ctc aac aac gag aag gtg caa act gaa | | | 2032 |
| Thr Ser Val Ala Pro Lys Glu Leu Asn Asn Glu Lys Val Gln Thr Glu | | | |
| 640 | 645 | 650 | |
| gat gcc gat gca cct aca agc ttt act cct ttt atc aag tac caa aag | | | 2080 |
| Asp Ala Asp Ala Pro Thr Ser Phe Thr Pro Phe Ile Lys Tyr Gln Lys | | | |
| 655 | 660 | 665 | |
| ctt gag ttc aag gtt gac act ttc ttt gca gtt ggg tct cct ctt gga | | | 2128 |
| Leu Glu Phe Lys Val Asp Thr Phe Phe Ala Val Gly Ser Pro Leu Gly | | | |
| 670 | 675 | 680 | |
| gtt ttt ctt gcc ctt cga aat ata cgt ctt ggg ata ggt aag gga aaa | | | 2176 |
| Val Phe Leu Ala Leu Arg Asn Ile Arg Leu Gly Ile Gly Lys Gly Lys | | | |
| 685 | 690 | 695 | 700 |
| gat tac tgg gaa gag gag aat gct att gaa gag atg cca gct tgt cgt | | | 2224 |
| Asp Tyr Trp Glu Glu Glu Asn Ala Ile Glu Glu Met Pro Ala Cys Arg | | | |
| 705 | 710 | 715 | |
| cga atg ttc aat ata ttt cac ccc tat gat cct gtt gca tat aga gtg | | | 2272 |
| Arg Met Phe Asn Ile Phe His Pro Tyr Asp Pro Val Ala Tyr Arg Val | | | |
| 720 | 725 | 730 | |
| gag cca ctt gtc tgc aaa gag tac ctt ccc gaa cga ccc gtt att att | | | 2320 |
| Glu Pro Leu Val Cys Lys Glu Tyr Leu Pro Glu Arg Pro Val Ile Ile | | | |
| 735 | 740 | 745 | |
| ccc tac cac aga gga ggc aag cgg ttg cat att gga tta cag gat ttc | | | 2368 |
| Pro Tyr His Arg Gly Gly Lys Arg Leu His Ile Gly Leu Gln Asp Phe | | | |
| 750 | 755 | 760 | |
| aga gaa gat ttt gct gca cgt tca cag aga ata atg aat cat ttt gat | | | 2416 |
| Arg Glu Asp Phe Ala Ala Arg Ser Gln Arg Ile Met Asn His Phe Asp | | | |
| 765 | 770 | 775 | 780 |
| tca gta agg aca aga gtt ctc act att tgt caa tcc aaa agt gca gat | | | 2464 |
| Ser Val Arg Thr Arg Val Leu Thr Ile Cys Gln Ser Lys Ser Ala Asp | | | |
| 785 | 790 | 795 | |
| aac cta gac gag atg gaa gaa act gat gac gaa aag gat gat agg tcc | | | 2512 |
| Asn Leu Asp Glu Met Glu Glu Thr Asp Asp Glu Lys Asp Asp Arg Ser | | | |
| 800 | 805 | 810 | |
| tat ggt tcc tta atg ata gag aga tta act gga act cga gac ggt cgg | | | 2560 |
| Tyr Gly Ser Leu Met Ile Glu Arg Leu Thr Gly Thr Arg Asp Gly Arg | | | |
| 815 | 820 | 825 | |
| ata gat cac atg ctc cag gag aaa acc ttt gag cat ccg tat cta caa | | | 2608 |
| Ile Asp His Met Leu Gln Glu Lys Thr Phe Glu His Pro Tyr Leu Gln | | | |
| 830 | 835 | 840 | |
| gca ata gga gct cat acg aac tat tgg aga gat caa gat act gct ctt | | | 2656 |

Ala Ile Gly Ala His Thr Asn Tyr Trp Arg Asp Gln Asp Thr Ala Leu
845 850 855 860
ttc ata att aaa cac ttg tat cgc gag tta cca gac gga cca aac tcg 2704
Phe Ile Ile Lys His Leu Tyr Arg Glu Leu Pro Asp Gly Pro Asn Ser
865 870 875
ccc acg gaa tcc acc gaa gga gat gat agt cca aaa gac tca agt aga 2752
Pro Thr Glu Ser Thr Glu Gly Asp Asp Ser Pro Lys Asp Ser Ser Arg
880 885 890
cct cat agc tgg ata gac aga aga gag gct gat tat gat gat gaa gag 2800
Pro His Ser Trp Ile Asp Arg Arg Glu Ala Asp Tyr Asp Asp Glu Glu
895 900 905
ctt cct tta aca ttc tcc gac aaa caa atc act aga agc ttc tct gca 2848
Leu Pro Leu Thr Phe Ser Asp Lys Gln Ile Thr Arg Ser Phe Ser Ala
910 915 920
gaa gcc aag aaa tat ttg aag aag cct taagactttg accgtaggtt 2895
Glu Ala Lys Lys Tyr Leu Lys Lys Pro
925 930
tatatcgtat atccggtgaa agctccctga ttttgTTTT gtttcctgtg cagaagtaac 2955
atctagtgtg gaaaatgtga aaagtaaaaa ctccgacatg gtttgccac attgtaacca 3015
taattttaca tataataaag caaaacaatg aaagctt 3052

【図面の簡単な説明】

【図1】 シロイヌナズナの野生型および *sgr2-1* の花茎の負の重力屈性の違いを示す写真である。

【図2】 シロイヌナズナの野生型および *sgr2-1* の胚軸の負の重力屈性の違いを示す写真である。

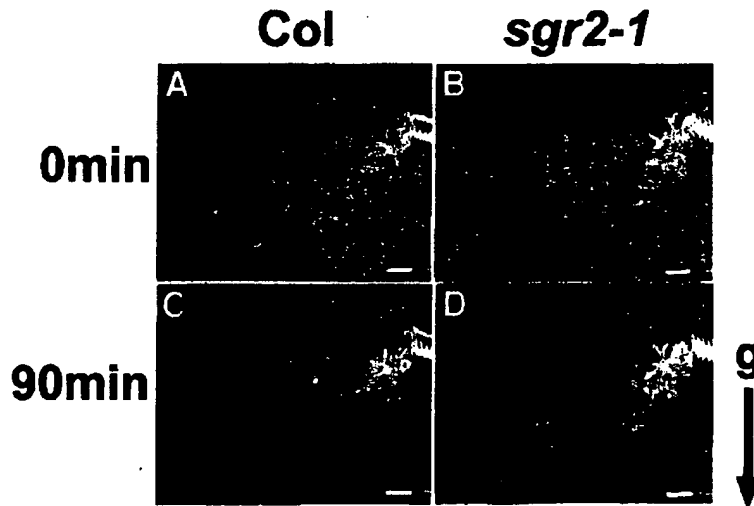
【図3】 *SGR2* 遺伝子のマッピングおよびゲノム解

析を示す模式図である。

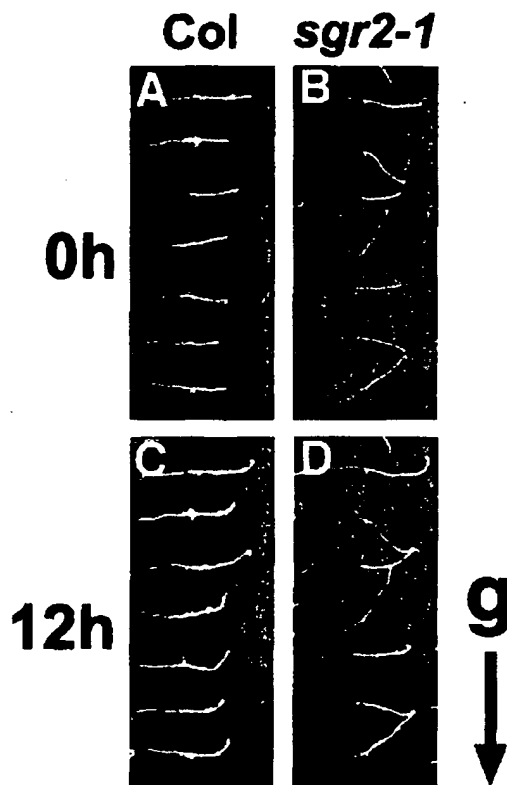
【図4】 *SGR2* 遺伝子のエキソンおよびイントロンを示す模式図である。

【図5】 *SGR2* タンパクの構造を示した模式図である。

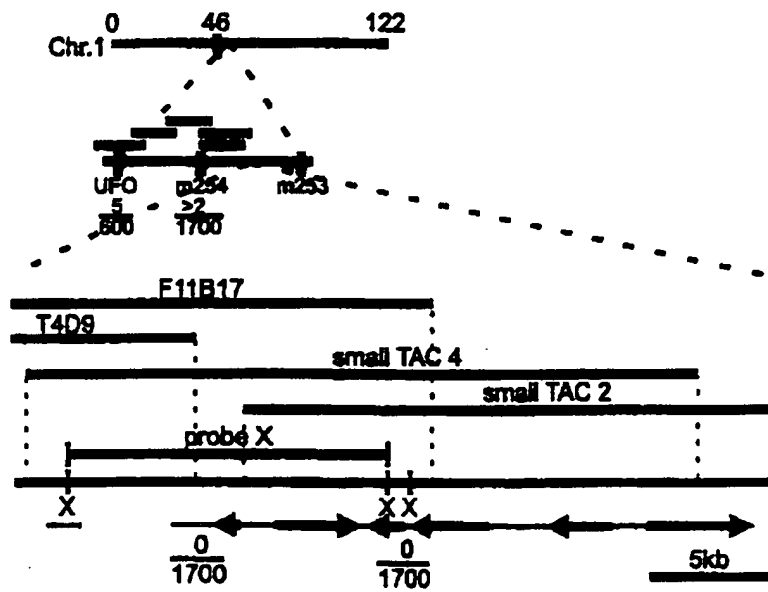
【図1】



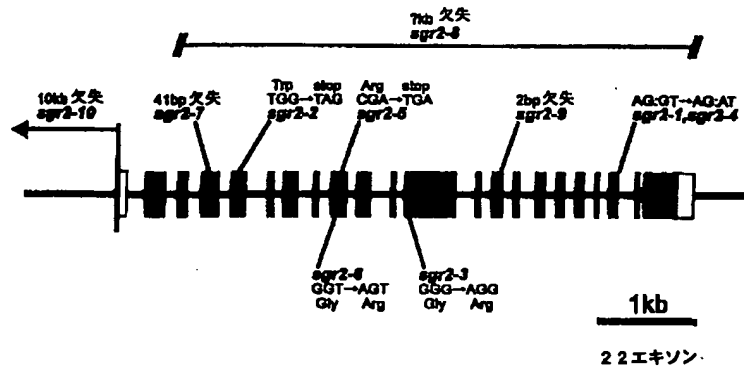
【図2】



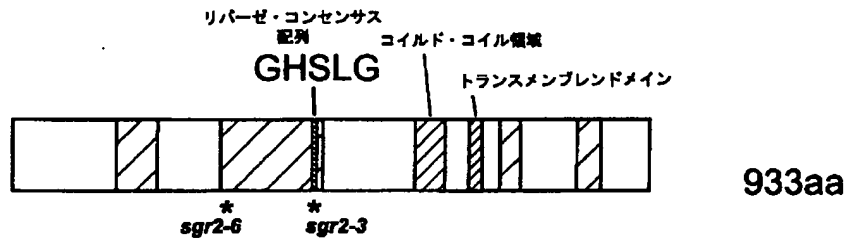
【図3】



【図4】



【図5】



フロントページの続き

Fターム(参考) 2B030 AA02 AB03 AD20 CA06 CA08
 CA17 CA19 CB02 CD03 CD06
 CD09 CD13
 4B024 AA08 BA80 CA04 DA01 DA05
 FA02 GA11 GA25 HA01 HA09
 HA14
 4B065 AA11X AA11Y AA88X AB01
 AC20 BA02 BA16 BA24 CA23
 CA53

GRAVITROPISM GENE AND HIGHER PLANT HAVING GERM AXIS AND SCAPE NOT EXHIBITING GENE EXPRESSION OF NEGATIVE GRAVITROPISM

Patent Number: JP2001120279
Publication date: 2001-05-08
Inventor(s): TASAKA MASAO;; KATO TAKEHIDE
Applicant(s): KANSAI TLO KK
Requested Patent: ☐ JP2001120279
Application Number: JP19990310178 19991029
Priority Number(s):
IPC Classification: C12N15/09; A01H5/00; C12N5/10
EC Classification:
Equivalents:

Abstract

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a gravitropism gene exhibiting the gene expression of negative gravitropism in the germ axis and scape of higher plants.

SOLUTION: This gravitropism gene is obtained by inducing a mutation in the seed of *Arabidopsis thaliana*, extracting a DNA from an individual not exhibiting the gene expression of negative gravitropism in the germ axis and scape and specifying a mutated part. The gravitropism gene exhibits the gene expression of negative gravitropism in the germ axis and scape of higher plants and is characterized by possessing a DNA domain encoding a protein in which the amino acid sequence shown by sequence number 1 in a sequence table is contained or the base sequence shown by sequence number 2 in the sequence table.

Data supplied from the esp@cenet database - I2